



TITLE:

小脳プルキンエ細胞の樹状突起形成に関わる甲状腺ホルモンシグナル経路の研究(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

初鹿野, 徹

CITATION:

初鹿野, 徹. 小脳プルキンエ細胞の樹状突起形成に関わる甲状腺ホルモンシグナル経路の研究. 京都大学, 2017, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2017-07-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20641>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	初鹿野 徹
論文題目	小脳プルキンエ細胞の樹状突起形成に関わる甲状腺ホルモンシグナル経路の研究		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>神経系を構築するニューロンの樹状突起は、その機能に応じて多様な形態を獲得する。甲状腺ホルモン（3,3',5-Triiodo-L-thyronine；T3）は、神経系の発達に重要であり、小脳プルキンエ細胞の樹状突起形成を促進することが知られているが、その制御メカニズムは不明な点が多い。一方、樹状突起の形成および維持には大量のATPを必要とするためミトコンドリアは増殖していく必要がある。プルキンエ細胞の樹状突起形成過程においてこれらの現象には関連があると考え、T3の標的遺伝子の一つでありミトコンドリア生合成の制御因子であるperoxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1α（PGC-1α）に着目し、T3によって誘導される樹状突起形成とPGC-1αの機能を調べた。</p> <p>まず、in vitroおよびin vivoでT3によって促進される樹状突起形成とPGC-1αの発現に関連があるのか調べた。その結果、小脳分散培養において、T3処理によりプルキンエ細胞の樹状突起形成が促進されるのと並行してミトコンドリアの活性とPGC-1αの発現が増加することがわかった。一方、T3非存在下の小脳分散培養では、樹状突起形成は阻害され、ミトコンドリアの活性とPGC-1αの発現は増加しなかった。さらに、小脳皮質の正常発生においてプルキンエ細胞のPGC-1αの発現は樹状突起伸長期に上昇するが、甲状腺ホルモン低下症モデルマウスにおいて、プルキンエ細胞の樹状突起形成が阻害され、PGC-1αの発現開始が遅延し、発現量が低下した。これらの結果より、PGC-1αの発現は、プルキンエ細胞の樹状突起形成時にT3によって誘導されることが示唆された。次に、樹状突起形成におけるPGC-1αの機能を調べた。T3存在下の小脳分散培養において、プルキンエ細胞の樹状突起形成とミトコンドリア生合成は、PGC-1αノックダウンにより抑制された。さらに、PGC-1αが補因子として結合しミトコンドリア生合成を制御する転写因子NRF1のドミナントネガティブ変異体を過剰発現すると、プルキンエ細胞の樹状突起形成が阻害された。また、PGC-1αとは逆にT3シグナルの下流遺伝子の転写を抑制することが知られている転写抑制補因子RIP140の過剰発現は、プルキンエ細胞の樹状突起形成を阻害した。これらの結果は、T3によって誘導されるプルキンエ細胞の樹状突起形成において、PGC-1αの発現が必要であることを示している。最後に、PGC-1αの発現がT3の樹状突起形成促進効果を補完するのに十分であるかどうか検証した。T3欠乏下ではプルキンエ細胞の樹状突起は、ほとんど伸長しない。しかしT3非存在下の小脳分散培養においてPGC-1αの過剰発現を行うと樹状突起形成とミトコンドリアの生合成が引き起こされた。以上の結果より、T3によって引き起こされるプルキンエ細胞の樹状突起形成は、少なくとも一部PGC-1αの発現を介して起こることが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

中枢神経系ニューロンは膜電位変化をシグナルとして送受信する神経活動の維持のため、絶えずATPaseイオンポンプを稼働して多量のエネルギーを消費する。特に樹状突起が成長し細胞容積と神経活動が拡大する過程で、急速に増加するATPエネルギー消費を賄うためにミトコンドリアの分布や機能が如何に制御されるか、明らかになっていない点が多い。

申請者はニューロン樹状突起成長に伴いミトコンドリア生合成が増加すると予想し、ミトコンドリア生合成のマスター制御因子とされる転写補因子 peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 α (PGC-1 α) の発現制御に注目した。小脳プルキンエ細胞をモデルとしてその分化過程におけるPGC-1 α タンパク質の発現を抗体染色で調べた結果、樹状突起形成期に誘導され、並行してミトコンドリア数と活性が急激に上昇することを見出した。そこでshort-hairpin RNAによるPGC-1 α のノックダウンを行いその影響を解析したところ、ミトコンドリア活性の上昇と樹状突起の成長が顕著に抑制されることが明らかになった。またPGC-1 α と結合する転写因子であり、ミトコンドリア活性と生合成を制御するNRF-1の機能阻害でも同様の結果が得られたことから、樹状突起成長にPGC-1 α の発現によるミトコンドリア生合成の誘導が必要であることが強く示唆された。

さらに申請者はプルキンエ細胞においてPGC-1 α の発現制御に甲状腺ホルモンシグナルが関与する可能性を検証した。甲状腺ホルモンは様々な組織と器官に作用し個体の成長や代謝を調節するが、欠乏症において小脳プルキンエ細胞樹状突起の成長が著しく遅延することが知られていた。甲状腺ホルモン欠乏症モデルマウスを作成してPGC-1 α 発現を解析したところ、プルキンエ細胞における発現が有意に低下していることが確認された。また甲状腺ホルモンを含まない無血清培地で培養したプルキンエ細胞ではPGC-1 α の発現が低く、甲状腺ホルモンを添加すると24時間以内にPGC-1 α 発現が誘導されたことから、甲状腺ホルモンシグナルがPGC-1 α 発現を制御することが強く示唆された。無血清培養したプルキンエ細胞ではミトコンドリア活性が低く、樹状突起形成も抑制されているが、PGC-1 α を強制発現するとミトコンドリア数と活性が上昇し、樹状突起発達が促進されることが明らかになった。以上の結果から、甲状腺ホルモンは、PGC-1 α の発現誘導とその下流で誘導されるミトコンドリア生合成を介してプルキンエ細胞樹状突起形成を促進することが証明された。

本論文の全編を通して、生命科学に関する優れた研究能力と高度で幅広い学識が示されている。また、生命科学の理解・発展に寄与する新規発見と概念が含まれており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成29年6月8日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日